



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 281 084**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **96918456 .3**

(86) Fecha de presentación : **06.06.1996**

(87) Número de publicación de la solicitud: **0833614**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **08.04.1998**

(54) Título: **Sistema y procedimiento para la producción de micropartículas cargadas con fármacos.**

(30) Prioridad: **07.06.1995 US 480624**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.09.2007

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.09.2007

(73) Titular/es: **SRI International**
333 Ravenswood Avenue
Menlo Park, California 94025-3493, US

(72) Inventor/es: **Bomberger, David, C.;**
Catz, Paul, G.;
Smedley, Mark, I. y
Stearns, Paul, C.

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Sistema y procedimiento para la producción de micropartículas cargadas con fármacos.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere de forma general al campo de la producción de micropartículas cargadas con fármacos, y se refiere específicamente al campo de la producción de micropartículas que producen una liberación sostenida y controlada del fármaco durante un periodo de tiempo. Más específicamente, la presente invención se refiere a un sistema y a un procedimiento para cargar micropartículas con la molécula de adhesión intercelular ICAM-1, uno o más dominios funcionales de la ICAM-1, uno o más fragmentos biológicamente activos de la ICAM-1, análogos de dichos fragmentos biológicamente activos de la ICAM-1, y sus combinaciones y derivados funcionales, y que depositándose dichas micropartículas en la cavidad nasal y producen una liberación sostenida y controlada de la ICAM-1 durante varias horas.

15 **Antecedentes de la invención**

En los últimos años, la vía nasal ha ido ganando interés como vía alternativa para la administración de fármacos activos por vía sistemática, como péptidos y proteínas. Algunas proteínas, como la molécula de adhesión intercelular ICAM-1, se liberan mejor a través de la vía nasal.

El intervalo del tamaño deseado de las micropartículas que se puede utilizar para liberar fármacos a través de la vía nasal es bastante reducido, es decir, diámetros aerodinámicos de entre 20 μm y 80 μm . Si las micropartículas son demasiado pequeñas, es decir, inferiores a aproximadamente 10 μm , se pueden dejar llevar por la corriente de aire hasta la región traqueobronquial. De este modo, las micropartículas que presentan un diámetro inferior a aproximadamente 10 μm se podrían utilizar para liberar fármacos a través de las vías traqueobronquiales. Si las micropartículas son demasiado grandes, es decir, superiores a aproximadamente 100 μm , entonces las micropartículas se depuran relativamente rápido de la vía nasal.

La liberación de fármacos en la mucosa nasal, tanto en acciones tópicas como sistemáticas, se ve influida por la duración del contacto con las partículas cargadas con fármacos. Las preparaciones de atomizadores nasales administrados utilizando inhaladores de dosis fija con propulsores o presurizadores se depositan principalmente en la parte anterior de la cavidad nasal. Esta es una región en gran parte no ciliada, y la depuración es relativamente lenta. Generalmente, la función mucociliar depura materiales de los cornetes a la nasofaringe por término medio a una velocidad de 6 mm/minuto, a una velocidad de flujo que aumenta posteriormente. La depuración nasal depende del tamaño de la partícula de las partículas cargadas con fármaco y del lugar de deposición en el interior de la vía nasal. Las partículas depositadas en la región anterior escasamente ciliada o no ciliada de la cavidad nasal se depuran a una velocidad más lenta debido a una lenta resistencia de la mucosidad contigua.

La mayoría de los rinovirus humanos, el mayor agente causal del resfriado común, utilizan la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) como un receptor en las células huésped. La ICAM-1 es una proteína de membrana integral con una amplia porción N-terminal extracelular, un ancla transmembrana, y un dominio citoplasmático corto C-terminal. La función fisiológica normal de la ICAM-1 es servir como ligando de la unión a la membrana de la integrina leucocitaria del antígeno asociado a la función linfocitaria-1 (LFA-1) y mediador intercelular de adhesión entre leucocitos y una variedad de tipos de células. (Ver, Greve *et. al.*, "Mechanisms of Receptor-Mediated Rhinovirus Neutralization Defined by Two Soluble Forms of ICAM-1", *J. Virol.* 65(11): 6015-6023 (1991)). Como la ICAM-1 se une a los rinovirus humanos, se ha propuesto una forma truncada de la ICAM-1, la t-ICAM-453, para uso clínico como un liberador nasal profiláctico para las infecciones por rinovirus. Sería deseable minimizar la necesidad de unas administraciones repetidas proporcionando un aumento del tiempo de contacto de la ICAM-1 en la cavidad nasal.

La tecnología para la producción de micropartículas presenta unas aplicaciones amplias para la liberación de fármacos. Se han utilizado numerosas técnicas para producir dichas micropartículas, incluyendo la evaporación con solvente, y secado por pulverización. Una de las técnicas más simples actualmente disponibles es la preparación de micropartículas de alginato cálcico mediante la extrusión o la pulverización de una solución de alginato sódico en pequeñas gotitas en una solución de cloruro cálcico.

La aceptabilidad de las micropartículas para la liberación controlada de fármacos, incluyendo las proteínas, en la vía nasal requiere un producto que presenta un diámetro pequeño, es decir, considerablemente inferior a un milímetro, que pueda ser producido en un tamaño y una distribución del fármaco constantes, y que presente propiedades de degradación controladas.

Un procedimiento para la producción de micropartículas de alginato cálcico consiste en dispersar la solución acuosa de alginato sódico que contiene el fármaco en una fase orgánica, se le añade a continuación el cloruro cálcico para endurecer las gotitas formadas por la emulsión. En tal procedimiento de producción de lotes, se requiere una proporción de 3:2 de dos surfactantes (trioleato sorbitán y polioxietileno trioletato sorbitán) y una concentración mínima de aproximadamente el 1% peso/peso (p/p) de surfactante para añadirla a la mezcla para producir partículas cargadas de fármaco aceptables. (Ver, por ejemplo, Wan *et. al.*, "Drug Encapsulation in Alginate Microspheres by Emulsification". *Microencapsulation* 9(3):309-316 (1992)). Otras proporciones o concentraciones de mezcla de surfactantes pueden

afectar al tamaño, a la forma y al grado de agrupamiento de la micropartícula, a la carga del fármaco y a las características de liberación del fármaco. Por consiguiente, este procedimiento de preparación de micropartículas de alginato cálcico es sensible a los tipos de surfactantes y a sus concentraciones.

- 5 En procesos de formación de emulsiones de lotes y técnicas de endurecimiento, se requieren habitualmente surfactantes para mejorar el tamaño/la forma de la micropartícula y la eficacia de la encapsulación del fármaco. Los problemas que probablemente pueden presentarse como resultado de la utilización de dichos surfactantes incluyen: dificultad de lavado de los surfactantes de la formulación y la medición de niveles residuales; posibles efectos adversos para la salud causados por cualquier residuo de los surfactantes; dificultad de lavado de los surfactantes de la formula-
10 ción aunque no se filtre el fármaco; y efectos potenciales en la bioadhesión, comportamiento expansivo, y en el perfil de la liberación del fármaco de la micropartícula.

- Las técnicas de formación de pulverización de gotitas para la producción de micropartículas tienden a produ-
cir partículas grandes, es decir, de más de un milímetro (1 mm) de diámetro. Aunque las técnicas de formación de
15 pulverización de gotitas se podrían utilizar para producir micropartículas en el intervalo de tamaño deseado o entre aproximadamente 20 μm y 80 μm , esta técnica de formación de gotitas no resulta deseable debido a la dificultad para avanzar en la técnica, la variabilidad de procesos, y la falta de idoneidad para un tratamiento farmacéutico limpio.

- 20 Numerosos productos químicos, polímeros y agentes de liberación controlada que se pueden utilizar en la producción de microesferas son bien conocidos y están disponibles comercialmente. Los ejemplos de materiales utilizados para la elaboración de microesferas por aplicación nasal son: polímeros de celulosa, específicamente éteres alquilo de cadena corta de celulosa, almidón, gelatina, colágeno, dextrano y derivados del dextrano, polímeros proteicos, como albúmina, cromoglicato disódico, sephadex, o DEAE-sephadex. Éstos pueden incluir mezclas o recubrimientos con
25 otros materiales como ácidos poliacrílicos, para mejorar las propiedades bioadhesivas y de liberación controlada de las microesferas. (*Ver, por ejemplo*, patente US n° 5.204.108 para Illum.).

- Se conocen otros materiales que se pueden utilizar en la producción de micropartículas e incluyen alginatos, goma xantan y goma gellan, entre otros. Las tres sustancias son eficaces como recubrimientos entéricos. Se sabe que los
30 alginatos producen películas uniformes, con aplicaciones en la industria tan diversas como recubrimientos de papel, impresión textil, y alimentos. La película de alginato resulta particularmente útil como recubrimiento entérico porque es aplica normalmente en forma de sodio soluble, que después se convierte a la forma de ácido algínico insoluble por los fluidos gástricos. Se han realizado mejoras mediante la combinación de alginato sódico con alginato cálcico en comprimidos que contienen una carga elevada de fármaco.

- 35 Los alginatos también se han utilizado en suspensiones fluidas durante muchos años debido a su capacidad de formar un gel al entrar en contacto con los fluidos gástricos. Además, las perlititas de gel de alginato cálcico suelen contener una variedad de sustancias, como aromas en la industria alimentaria, enzimas para birreactores, células vivas, y organismos vivos. El alginato cálcico es particularmente preferido por las condiciones moderadas utilizadas en su
40 producción y la no toxicidad de sus reactivos.

- Alginato es un término colectivo para una familia de copolímeros que contienen residuos enlace β -1,4-D-manurónico y α -L-ácido gulurónico en proporciones variables y una colocación secuencial. El alginato forma geles con iones divalentes como el calcio, y las propiedades de formación del gel están fuertemente correlacionadas con la proporción
45 y las longitudes de los bloques contiguos de residuos de ácido L-gulurónico en las cadenas poliméricas. Las propiedades de los alginatos se describen en Martinsen *et. al.*, "Alginate as Immobilization Material," *Biotechnol. Bioeng.* 33:79-89 (1989).

- A pesar de que existen varios informes sobre la utilización de perlititas de alginatos para microencapsular péptidos
50 y proteínas, prácticamente todos los informes indican tamaños de perlititas superiores a 100 μm de diámetro. Además, prácticamente en todos los informes las perlititas de gel de alginato se preparan vertiendo una solución de alginato sódico en una solución acuosa de cloruro cálcico para formar las perlititas. A pesar de que este procedimiento produce perlititas microencapsuladas, la dificultad en el control de las condiciones operativas para producir micropartículas en el intervalo de tamaño deseado, la dificultad para avanzar, la falta de idoneidad de un procesamiento farmacéutico limpio
55 hace que dichos procedimientos sean poco viables para la producción comercial de micropartículas que contengan proteínas como la ICAM-1.

- La preparación de microesferas cargadas de fármaco se describe de forma general en la patente US n° 5.204.108 para Illum. En esa patente, los agentes activos se incorporan a las microesferas realizadas en gelatina, albúmina,
60 colágeno, dextrano y derivados del dextrano. Las microesferas finales se reticulan y se procesan finalmente para la aplicación transmucosa. Sin embargo, todavía existe la necesidad de unas microesferas que apliquen un fármaco en la vía nasal para la liberación prolongada controlada del fármaco en la vía y que no cruce a la barrera mucosa ni se depuren de la vía.

- 65 Por consiguiente, todavía existe la necesidad de un procedimiento y de un sistema para la producción de micropartículas cargadas con fármacos, péptidos o proteínas que se pueda utilizar para la liberación sostenida controlada del fármaco o de la proteína. El procedimiento y sistema preferido debería producir micropartículas de forma fiable para la aplicación del fármaco en la vía nasal que presenten una carga previsible, que estén dentro de un intervalo de tamaño

de entre aproximadamente 20 μm y aproximadamente 80 μm , con aproximadamente un 80% a aproximadamente un 100% de recuperación, y sin una pérdida significativa de la eficacia del fármaco.

El documento WO 96 03142A describe una composición para la aplicación del fármaco para la administración nasal de agentes antivirales. El documento WO 93 06842A describe la utilización de moléculas de adhesión intercelular y sus ligandos de unión en el tratamiento del asma. El documento WO 91 06282A describe composiciones de pequeñas partículas de fármaco. La patente US nº 5476663 describe microcápsulas producidas mediante la preparación de una emulsión de agua en aceite.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un sistema y a un procedimiento para la preparación de micropartículas de alginato cargadas con un fármaco, incluyendo una proteína como la molécula de adhesión intercelular ICAM-1, que se puede aplicar a través de la vía nasal.

Según un aspecto de la invención se proporciona un aparato para formar las micropartículas cargadas con un fármaco, que comprende: una primera cámara de mezcla, dicha primera cámara comprende un primer orificio adaptado para introducir axialmente en dicha primera cámara de mezcla, una primera corriente de una primera solución que comprende unas cantidades predeterminadas de dicho fármaco y un polímero formador de micropartículas; y un segundo orificio próximo a dicho primer orificio adaptado para introducir una segunda corriente de un emulsionante en dicha primera corriente, para formar una emulsión en dicha primera cámara de mezcla, dicho segundo orificio presenta un diámetro y una orientación a dicha primera cámara de mezcla en la que dicha segunda corriente está dirigida a romper dicha primera solución en partículas pequeñas, y dicho segundo orificio influye en dicha segunda corriente y dicha primera corriente para formar dichas partículas pequeñas y para moverse en una trayectoria helicoidal en dicha primera cámara de mezcla; y una segunda cámara de mezcla, axialmente adyacente a dicha primera cámara de mezcla, que incluye un tercer orificio adaptado para introducir una solución de reticulación, dicha solución de reticulación contiene una cantidad predeterminada de un agente reticulante en un solvente de reticulación, en dicha segunda cámara de mezcla, dicho tercer orificio presenta un diámetro y una orientación a dicha segunda cámara de mezcla en la que dicho agente reticulante se inyecta de forma ortogonal a y desplazada con respecto un eje de dicha segunda cámara de mezcla, en la que dicho agente reticulante es dirigido por dicho tercer orificio en dicha primera corriente y dicha segunda corriente creando una flujo helicoidal turbulento.

Según otro aspecto de la invención se proporciona un procedimiento para la producción de micropartículas cargadas con fármaco, que comprenden las fases de: introducción de una corriente que comprende un alginato y el fármaco a una velocidad de flujo predeterminada en una primera cámara de mezcla para formar gotitas de alginato que contienen el fármaco; introducción de una corriente de un emulsionante a una velocidad de flujo predeterminada en dicha primera cámara de mezcla; formando una emulsión de dichas gotitas de alginato y dicho emulsionante en dicha primera cámara de mezcla; y transportar dicha emulsión desde dicha primera cámara de mezcla a un recipiente que contiene una cantidad de un agente reticulante.

Se describe un sistema que comprende un sistema de flujo semicontinuo que mezcla, una corriente de alginato, más preferentemente un alginato sódico de baja viscosidad cargado con fármaco (LVCR), con una corriente de emulsionante para formar una emulsión en una cámara de mezcla. En un punto inferior ya sea en la misma cámara de mezcla o bien en un adyacente, se añade a la emulsión una corriente que contiene un agente reticulante, como una sal cálcica. En el proceso de reticulación, el sodio del alginato sódico se sustituye por calcio, para formar unas micropartículas de alginato cálcico insolubles en agua cargadas con el fármaco. Después de la recolección, las micropartículas se filtran, se lavan, se secan en un horno de vacío y, si es necesario, se disgregan utilizando una ligera presión para producir micropartículas cargadas con fármaco individuales que se pueden aplicar a través de la vía nasal.

El sistema y el procedimiento de una forma de realización producen micropartículas que presentan diámetros aerodinámicos de entre aproximadamente 20 μm y aproximadamente 80 μm , con un diámetro aerodinámico medio de la masa (DAMM) preferentemente entre aproximadamente 40 μm y aproximadamente 50 μm con una carga de ICAM-1 de aproximadamente el 10% en peso. El rendimiento del sistema alcanza hasta aproximadamente el 100%.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra una representación esquemática de una sección transversal longitudinal de un bloque de mezcla representativo de la forma de realización de la presente invención.

La Figura 2 un esquema de un procedimiento y un sistema que materializa la presente invención.

La Figura 3 es un diagrama de flujo de una forma de realización del procedimiento de la presente invención.

La Figura 4 muestra una representación esquemática en una sección transversal longitudinal de un bloque de mezcla representativo que materializa la presente invención.

La Figura 4A muestra en una sección transversal longitudinal el bloque de mezcla de la Figura 4, con tuberías y mylar adecuados.

La Figura 4B es una sección transversal tomada a lo largo de las líneas 4B-4B de la Figura 4A.

La Figura 4C es una sección transversal tomada a lo largo de las líneas 4C-4C de la Figura 4A.

5 La Figura 5 muestra en una sección transversal longitudinal un segundo bloque de mezcla representativo con la segunda cámara de mezcla de un sistema que materializa la presente invención.

La Figura 6 muestra en una sección transversal longitudinal un segundo bloque de mezcla representativo con la segunda cámara de mezcla de un sistema que materializa la presente invención.

10

Descripción de las formas de realización específicas

La presente invención se refiere a un sistema y a un procedimiento nuevos para la producción de micropartículas cargadas con un fármaco o proteína deseado, como la ICAM-1, que se puede administrar a través de la vía nasal para una liberación controlada del fármaco.

La mayoría de los sistemas de administración de fármacos que utilizan la vía nasal, buscan aumentar la transferencia sistémica del fármaco. El mecanismo de la molécula de adhesión intercelular de la proteína ICAM-1 requiere que la partícula permanezca en la superficie de la vía nasal, sin ser absorbida dentro del sistema del huésped y sin ser depurada por el eficiente sistema de depuración nasal. Por consiguiente, para la ICAM-1, es importante identificar un sistema para la producción de micropartículas de ICAM-1 cargadas que se puedan transportar a una vía nasal, y que permanezcan en la vía durante un tiempo suficiente para permitir que la molécula de ICAM-1 se una a la molécula del rinovirus diana antes de que la ICAM-1 sea absorbida o bien depurada.

25 El sistema descrito en el presente documento produce partículas microesféricas de forma fiable que presentan diámetros aerodinámicos en un intervalo de entre aproximadamente 20 μm y aproximadamente 80 μm , preferentemente con un AMMD en un intervalo de entre aproximadamente 40 μm y aproximadamente 50 μm , y con una carga del fármaco aproximada de un 10% en peso y una tasa de recuperación de la ICAM-1 superior a aproximadamente el 80%.

30

Haciendo referencia a la Figura 4 de las figuras, una forma de realización preferida del sistema de la invención generalmente comprende un bloque de mezcla que presenta una primera y una segunda cámaras de mezcla cilíndricas conectadas axialmente dispuestas en el mismo. El diámetro de la segunda cámara es preferentemente algo más grande que el de la primera cámara. Una primera corriente de la solución fármaco/polímero se introduce axialmente en la primera cámara a través de un primer orificio axial longitudinal localizado en la pared final de la primera cámara distante de la segunda cámara. Una segunda corriente de emulsionante se introduce en la primera cámara a través de un segundo orificio, en posición adyacente al mismo final de la primera cámara en el primer orificio para inyectar la segunda corriente sustancialmente ortogonal a y desplazada respecto a la primera corriente. Preferentemente el segundo orificio está dispuesto para inyectar la segunda corriente tangencialmente a la pared cilíndrica de la primera cámara. El final de la segunda cámara cilíndrica opuesta a la primera cámara se abre para que el líquido pueda salir de la segunda cámara suavemente, sin efectos remolino.

Las velocidades de flujo de las primera y segunda corrientes y las dimensiones de las primera y segunda cámaras son tales que ambas cámaras se llenan con los líquidos inyectados. Por consiguiente, los líquidos inyectados fluyen del primer y segundo orificio a través de las primera y segunda cámaras y fuera de un tercer orificio formado por el final abierto de la segunda cámara. La corriente emulsionante inyectada tangencialmente a través del segundo orificio presenta asimismo un componente de velocidad axial de flujo del líquido a través de las cámaras, resultando de ese modo generalmente en una trayectoria helicoidal. Esto da como resultado una turbulencia controlada en la primera cámara suficiente para crear una emulsión de gotitas formadas por la solución fármaco/polímero en contacto con el emulsionante al entrar en la primera cámara, pero sin reducir significativamente el tamaño de las gotitas formadas inicialmente.

En la segunda cámara las gotitas están reticuladas mediante un agente reticulante que se introduce a través de un cuarto orificio situado de tal forma que se inyecta una corriente de solución de reticulación incluyendo el agente reticulante a la segunda cámara ortogonal a y desplazada respecto al eje longitudinal de la segunda cámara. Preferentemente, el cuarto orificio está posicionado para inyectar la corriente reticulada tangencialmente a la pared cilíndrica de la segunda cámara para crear un flujo helicoidal turbulento del agente reticulante.

Varios parámetros afectan potencialmente al éxito de dicho sistema. Por ejemplo, las propiedades del solvente, como la polaridad y la hidrofilia, presentan un impacto potencial en la miscibilidad, la carga del fármaco, y la interacción con la emulsión acuosa. Las velocidades de flujo en las cámaras de mezcla del sistema presentan un efecto potencial en las características de la mezcla y la turbulencia dentro del bloque de mezcla, que afectan sucesivamente al tamaño de la micropartícula, la distribución del tamaño de las micropartículas y la probabilidad de agrupamiento dentro de las cámaras de mezcla. La concentración del agente reticulante presenta un efecto potencial en la velocidad y minuciosidad del proceso de reticulación. Los procesos de lavado y filtrado presentan un efecto potencial en la filtración del fármaco, la pérdida de partículas pequeñas y la aglomeración de micropartículas.

ES 2 281 084 T3

Tal como se utilizan en el presente documento, las abreviaciones y los términos siguientes comprenden, pero no son necesariamente limitativos, las definiciones siguientes:

“ICAM-1” se referirá a la molécula de adhesión intercelular ICAM-1, y se utiliza para describir tanto las formas de tamaño completo (trans-membrana) como truncado (no trans-membrana) de la ICAM-1, fragmentos específicos biológicamente activos, y combinaciones análogas funcionales y sus derivados, e incluye específicamente la t-ICAM-453.

“LVCR” se referirá a alginato sódico de baja viscosidad.

“Micropartícula” se referirá a una pequeña aglomeración, sustancialmente sólida de un fármaco diana y un polímero que presentan un diámetro de entre aproximadamente 20 μm y aproximadamente 80 μm , y que son de tamaño y distribución del fármaco constantes y con propiedades de degradación controladas.

“Número de Reynolds” es un número adimensional que es significativo en el diseño de un modelo de cualquier sistema en el que el efecto de la viscosidad es importante para controlar las velocidades o el patrón de flujo de un fluido, expresado por la fórmula:

$$\frac{DVL}{\mu}$$

en la que D equivale a la densidad de un fluido, V equivale a la velocidad del fluido, L equivale al diámetro del orificio o la cámara a través de la cual el fluido se mueve, y μ equivale a la viscosidad del fluido.

“Alginato” se referirá a una familia de copolímeros que contienen residuos enlace β -1,4- β -D-manurónico y α -L-ácido gulurónico en proporciones variables y una colocación secuencial.

“Fármaco” se referirá a cualquier sustancia que tiene por objeto su utilización en el diagnóstico, la cura, la mitigación, el tratamiento o la prevención de una enfermedad, incluyendo cualquier tipo de proteínas activas farmacológicamente y péptidos, e incluyendo moléculas pequeñas, hormonas, polipéptidos, vacunas, y sus componentes.

“Emulsión” se referirá al resultado de la combinación de dos líquidos inmiscibles, como acetato etilo y LVCR, en el que un líquido se dispersa como gotitas pequeñas en el otro líquido.

La forma de realización del sistema de la invención ilustrada en una sección transversal en la Figura 1, es un sistema de flujo semicontinuo que comprende un bloque de mezcla (100) que presenta unas cámaras de mezcla cilíndricas conectadas axialmente (102, 108) y orificios (104, 106, 110) allí formados. Tal como se muestra en la Figura 1, el bloque de mezcla (100) incluye un primer bloque de mezcla (132) con una primera cámara de mezcla (102) allí, y un segundo bloque de mezcla (134) con una segunda cámara de mezcla (108) allí. La segunda cámara de mezcla (108) comprende una pluralidad de vías (110, 113) para que la emulsión y una solución reticulada pasen a través de ellas. Los dos bloques (132, 134) pueden ser bloques separados que se unen mediante tubos flexibles o por una vía rígida. Alternativamente, y como se trata a continuación en la Figura 4, las dos cámaras de mezcla (102, 108) se pueden incorporar a un solo bloque de mezcla.

En una forma de realización preferida, los bloques de mezcla (132, 134) se forman a partir de un material no metálico, como TeflonTM o DelrinTM, generalmente ambos disponibles comercialmente. Alternativamente, las superficies interiores de las cámaras de mezcla (102, 108) se pueden recubrir con o formarse a partir de un material no pegajoso, como TeflonTM o DelrinTM, u otro material sintético no humectante, ya que el alginato sódico o cálcico puede precipitar en superficies metálicas, lo que podría llevar a un bloqueo de uno o más orificios (104, 106, 110, 113) si tuvieran superficies metálicas. Por ejemplo, cuando una solución de reticulación que contiene sal cálcica en acetona o etanol entra en contacto con un polímero en presencia del metal, los efectos del metal de la superficie causan la aglomeración de las micropartículas y la obstrucción de los orificios. Otra alternativa sería utilizar la inserción de un tubo de TeflonTM en las cámaras (102, 108, 110) y un tercer orificio interior (113) para reducir los efectos de la superficie con el metal.

En una forma de realización, la segunda cámara de mezcla (108) comprende un mezclador estático en línea (112) para aumentar la turbulencia en esta cámara (108). El mezclador (112) puede ser una hélice con filos cortantes que proporciona una vía intrincada para el flujo entrante de la emulsión. Se pueden utilizar otros dispositivos para aumentar el flujo de la emulsión a través y/o en la segunda cámara (108) y para aumentar la turbulencia dentro de esa cámara (108). Sin embargo, puede ser posible crear la suficiente turbulencia sin aparatos de mezcla adicionales mediante el ajuste de las velocidades de flujo de las corrientes a través de varios orificios (104, 106, 110, 113).

El bloque de mezcla (100) puede ser de cualquier tamaño apropiado para la producción a escala comercial. En la forma de realización ilustrada en la Figura 4, el bloque sólido (400) está realizado en DelrinTM, y mide aproximadamente 7,6 cm por 5,1 cm por 5,1 cm. En esa forma de realización, el diámetro de la cámara delantera (404) es de 0,32 cm (0,125 pulgadas), y el diámetro de la cámara más ancha (406) es de 0,48 cm (0,19 pulgadas). La longitud total interior de la cámara (402) es de aproximadamente 8,4 cm (3,5 pulgadas). Se pueden utilizar otros tamaños, si se desea, con los ajustes de parámetros apropiados. En esa forma de realización ilustrada, el bloque de mezcla (400)

presenta una sola cámara de mezcla (402), con un primer sector de “asa” (404) y un sector más largo (406). Las flechas indican la dirección en que la corriente fluye dentro y fuera de la cámara (402). La longitud total del bloque de mezcla (400) es de aproximadamente 5,1 cm, y el sector estrecho de la cámara de mezcla (404) es de aproximadamente 0,32 cm de diámetro, ensanchándose hasta aproximadamente 0,48 cm de diámetro en el sector más largo (406).

Básicamente, un primer orificio (104) se extiende a lo largo del horizontal del bloque (100). Una solución de fármaco(polímero, expuesta con mayor detalle a continuación, se introduce a una velocidad de flujo predeterminada a través del primer orificio (104) y al interior de la primera cámara de mezcla (102). Un segundo orificio (106) se posiciona esencialmente de manera ortogonal a la pared interior de la primera cámara (102) y desplazado respecto a la línea del flujo de corriente del primer orificio (104). Se introduce un emulsionante a una velocidad de flujo predeterminada a través de este orificio (106) y al interior de la primera cámara de mezcla (102) para formar una emulsión con la solución fármaco/polímero dentro de la primera cámara de mezcla (102). En la forma de realización ilustrada de la Figura 4, ambos orificios (408, 410) presentan el mismo diámetro interior de 0,034 cm.

Es posible modificar el diámetro interior de un orificio sobre el otro y ajustar las velocidades de flujo relativas de los dos componentes y aun así conseguir micropartículas de un diámetro medio deseado. Un pequeño cambio en el diámetro interior de un orificio puede afectar la turbulencia, expresada por el número Reynolds, y de este modo afectar al tamaño de las micropartículas resultantes.

El orificio (412) a través del cual se introduce la solución de reticulación está desplazado respecto a la línea de la corriente de la emulsión, y presenta un diámetro ligeramente más largo que los otros dos orificios, es decir, aproximadamente 0,16 cm.

Tal como se ilustra en la Figura 4A, que está ampliada y no dibujada a escala, cada orificio presenta un tubo hilado normal (NPT) accesorios (452) como accesorios Swagelok®, equipamiento de tubería (450) que lleva a la cámara de mezcla (402). En la ilustración de este ejemplo, la tubería (450) se asegura con un accesorio NPT (452) a cada uno de los orificios (408, 410, 412). En los orificios (408, 410), el diámetro del orificio es preferentemente más pequeño que el diámetro interior de la tubería de forma que no exista interrupción del flujo de la solución fármaco/polímero al entrar en la cámara (402).

La turbulencia creada por las corrientes del flujo de la solución respectivas desde los orificios (408, 410) ayuda a asegurar que la mayor parte del polímero entre en contacto con el emulsionante. A medida que la emulsión se forma, se desplazada al interior del sector más largo de la cámara de mezcla (406), donde encuentra una corriente de agente reticulante fluyendo del orificio terciario (412). La turbulencia generada en ese sector de la cámara de mezcla (406) es generada por la corriente de la solución de reticulación y el flujo de la emulsión del sector del asa de la cámara de mezcla (404). Las micropartículas y el solvente resultantes se expresan después a través del orificio de salida (414) del sector más largo de la cámara (406).

La Figura 4C, que está ampliada y no dibujada a escala, muestra la cámara de mezcla (404) en una sección transversal. En esta forma de realización ilustrada, el primer orificio (408) se extiende por el eje longitudinal e introduce la corriente de la solución fármaco/polímero en la parte del “asa” (404) de la cámara. El segundo orificio (410), a través del cual se introduce un emulsionante, se alinea de tal forma que la pared exterior del segundo orificio (410) es ortogonal a la pared interior de la cámara (404), para introducir la corriente emulsionante de forma tangencial a la corriente de la solución fármaco/polímero. Tal como se ilustra, el segundo orificio (410) está desplazado respecto a la alineación del primer orificio (408).

La cantidad desplazada respecto a segundo orificio (410) desde el primer orificio (408) es suficiente para generar una turbulencia dentro de la cámara (404) de gotitas de fármaco/polímero y emulsionante. Más preferentemente, las corrientes respectivas desde los orificios (408) y (410) no se cruzan. El movimiento hacia delante de la corriente del orificio (408), combinado con el movimiento tangencial de la corriente del orificio (410) forma una vía helicoidal a través de la parte más estrecha (404) de la cámara y al interior de la parte más larga (406) de la cámara, y por último fuera del orificio de salida del bloque (414).

De forma similar, y como se muestra en la Figura 4B, el tercer orificio (412) se dispone sustancialmente ortogonal a la cámara interior (406) y desplazado respecto a la corriente de la emulsión que entra en la cámara (406).

La introducción tanto de la solución fármaco/polímero como del emulsionante, por el mismo eje, es decir, la introducción coaxial de las dos soluciones en la primera cámara de mezcla no produce micropartículas del tamaño deseado. La cantidad de turbulencia establecida en el interior de la primera cámara de mezcla (102) está afectada por la dirección de introducción de la solución emulsionante y la solución fármaco/polímero. La introducción de la corriente emulsionante sustancialmente tangencial a la pared de la cámara (102) y desplazada respecto a la corriente de la solución fármaco/polímero crea suficiente turbulencia para producir micropartículas dentro del intervalo de tamaño deseado.

La Figura 5 muestra una forma de realización alternativa de un segundo bloque de mezcla (500) que contiene una segunda cámara de mezcla (502) para introducir una corriente de agente reticulante en una emulsión que se desplaza desde una primera cámara de mezcla (no mostrada) a la segunda cámara de mezcla (502) a través de un orificio de entrada (506). En la forma de realización ilustrada, se utiliza un diseño de un tubo corto estándar para introducir la emulsión desde la primera cámara de mezcla (no mostrada) a la segunda cámara de mezcla (502).

El diámetro de la cámara de mezcla ilustrada (502) es de aproximadamente 0,95 cm. El orificio (504) está dispuesto para introducir el agente reticulante tangencial a la pared cilíndrica del mismo, produciendo de este modo un flujo turbulento helicoidal en el interior. El orificio (504) no es colateral al orificio (506) a través del cual la emulsión entra en la cámara.

La Figura 6 ilustra una forma de realización alternativa de un segundo bloque de mezcla (600) que contiene una segunda cámara de mezcla (602) en cuyo interior se introducen el agente reticulante y la emulsión. En esta forma de realización, se utiliza un tubo T anular de mezcla (604) para introducir la emulsión desde la primera cámara de mezcla (no mostrada) a la segunda cámara de mezcla (602).

El diámetro exterior del tubo T anular (604) es de aproximadamente 0,64 cm, y el diámetro interior de la cámara de mezcla (602) es de aproximadamente 0,95 cm. El diámetro del orificio (606) a través del cual se introduce el agente reticulante es de aproximadamente 0,95 cm.

En una forma de realización preferida, un polímero de bajo peso molecular (LVCR) se utiliza como polímero, y la ICAM-1 se utiliza como fármaco. El LVCR se disuelve en agua a una concentración de aproximadamente el 1% p/p, y se añade la ICAM-1 hasta una concentración final de ICAM-1 de 0,11% p/p. Esto lleva a la carga teórica de ICAM-1 en el producto final de aproximadamente el 5%-15%, más preferentemente aproximadamente el 10%. Se pueden utilizar otros porcentajes tanto de polímero como de fármaco, dependiendo de las velocidades de flujo, del polímero específico, y del fármaco específico que se haya cargado. La solución fármaco/polímero también puede contener sales tampón del tipo apropiado para el fármaco en particular. Por ejemplo, se puede utilizar un tampón TRIS o histidina en la preparación y almacenaje de la ICAM-1, de este modo las sales de esos tampones estarán presentes en la solución LVCR. Estos tampones también se pueden añadir a la solución fármaco/polímero para controlar el pH y la posible degradación de la ICAM-1.

El polímero preferido utilizado para formar las micropartículas es alginato sódico, disponible comercialmente en Merck & Co., Inc. (Kelco Division, U.S.A., Rahway, N.J.) y más preferentemente un alginato sódico de bajo peso molecular. Los alginatos sódicos se pueden utilizar en la puesta en práctica de la presente invención incluyen: Keltone HVTM, Keltone LVTM, Kelgin HVTM, Kelgin MVTM, Kelgin LVTM, Manucol DMFTM, Manucol DHTM, Manucol LDTM, y Manugel DMBTM, todos ellos disponibles comercialmente en Merck & Co., Kelco Division, U.S.A. Otros alginatos están disponibles en Kabul Chemical Col o Pronota Biopolymers.

Se pueden utilizar otros polímeros en la puesta en práctica de la presente invención que presentan las características de liberación deseadas para el fármaco que se libera a partir de las micropartículas, o que presentan propiedades bioadhesivas deseadas apropiadas para un fármaco o un sistema de administración en particular.

Se pueden utilizar otros polímeros en la solución del fármaco que pueden incluir alginato cálcico sódico, alginato potásico, alginatos de propilenglicol, goma xantan, y goma gellan, polímeros hidrofílicos de celulosa, y proteínas naturales, y polímeros sintéticos, entre otros. La selección de un polímero dependerá del fármaco que se está cargando.

Un fármaco utilizado en una forma de realización preferida del sistema de la invención es la t-ICAM-453, que fue proporcionada por Bayer Corporation, Pittsburg, PA, como un 1-2% de solución t-ICAM-453 tamponada con TRIS-HCl. El fármaco puede presentarse inicialmente congelado, congelado en seco o en una solución tamponada a una concentración apropiada para el fármaco en particular. Las muestras de fármaco congelado se añaden después a la solución de LVCR u otra solución de polímero apropiada.

En la puesta en práctica de la presente invención, y haciendo referencia a la Figura 1, la solución fármaco/polímero se bombea al interior de la primera cámara de mezcla (102) a través de un tubo (no mostrado), preferentemente realizado en TeflonTM u otro material no metálico, a través del primer orificio (104). El tubo está sujeto dentro del orificio (104) en una punta, y está conectado a una bomba de control de flujo (no mostrada) en la otra punta. La solución fármaco/polímero se introduce en la primera cámara de mezcla (102) a una velocidad de flujo predeterminada que produce una turbulencia dentro de la primera cámara suficiente para crear gotitas de polímero sin reducir de forma significativa el tamaño de las partículas.

Se introduce sustancialmente de forma simultánea un emulsionante en la primera cámara de mezcla (102) a través de un tubo (no mostrado) sujeto dentro del segundo orificio (106) por una punta y controlado por una bomba de control de flujo (no mostrada) en la otra punta. En una forma de realización preferida para la producción de micropartículas cargadas con ICAM-1, el emulsionante es acetato de etilo, y más preferentemente un acetato etilo húmedo (aproximadamente 2,8-3%). El emulsionante preferentemente se satura (con agua) para evitar que el emulsionante deshidrate la solución basada en agua y provoque un aumento de concentración debido a las interacciones de fases entre el emulsionante y la solución fármaco/polímero. Específicamente, cuando se utiliza acetato de etilo en un sistema de ICAM-1, el agua de la solución fármaco/polímero es soluble en el acetato de etilo en concentraciones inferiores a 3%. En ese caso, el acetato de etilo deshidrata la emulsión de alginato y produce un gel altamente viscoso. Este problema puede resolverse mediante la prehumidificación del acetato de etilo a un nivel de aproximadamente 2,8% o superior antes de la utilización. En otras formas de realización cuando el fármaco no se presenta en un solvente basado en agua, es posible utilizar otros emulsionantes no saturados y no interactivos.

En la forma de realización de la ICAM-1 de la presente invención, se prefiere el acetato de etilo como solvente formador de la emulsión porque sólo es parcialmente miscible en agua, es completamente miscible con los agentes reticulantes, tratado con mayor detalle a continuación y tiene categoría de GRAS (es decir, Generalmente Reconocido como Seguro) en el estado de calidad alimenticia, presenta un gran pureza, y no es caro.

En un sistema que se utiliza acetona/etanol al 70/30 como solvente de reticulación y que se utiliza una concentración de solución de TRIS de 0,5mM en muestras tamponadas LVCR/ICAM-1 resulta en una carga teórica de ICAM-1 del 66%. Utilizando una muestra tamponada de TRIS 10mM resulta en una carga teórica de ICAM-1 del 100%. El efecto de la concentración de tampón en la carga de ICAM-1 en un sistema de etanol puro no es tan espectacular. Bajo condiciones de funcionamiento idénticas, un tampón TRIS 0,5 mM produce un 67% de carga de ICAM-1 y un tampón de TRIS 10 mM produce un 65% de carga de ICAM-1.

En la puesta en práctica de la presente invención, una solución de tampón puede inicialmente pasar a través del orificio (104) a la primera cámara de mezcla (102) antes de la introducción tanto de la solución fármaco/polímero como del emulsionante para preparar el llenado de la cámara de mezcla y para cebar las bombas asociadas con el sistema. Cuando se introducen simultáneamente tanto la solución y el emulsionante en la primera cámara de mezcla (102) a través de dos orificios (104, 106), se forma una emulsión. La turbulencia creada en el interior del primer bloque de mezcla (102) por la contrarrestación de las corrientes de las soluciones que entran en el primer bloque de mezcla (102) rompe el líquido secundario (es decir, el LVCR) en gotitas individuales. El tamaño de las gotitas depende de la cantidad de turbulencia en la cámara y de las propiedades de ambos líquidos, que está relacionado con el número Reynolds del sistema en la cámara. Cuanto mayor sea el número Reynolds, menor será el tamaño de la micropartícula. Además, cuanto más viscosas sean las dos soluciones, habrá mayor dificultad para crear turbulencia.

Una vez que las micropartículas se forman en la primera cámara de mezcla (102), fluyen a una segunda cámara de mezcla (108). La segunda cámara de mezcla (108) es preferentemente adyacente al primer bloque de mezcla (102), para facilitar el flujo de la emulsión que contiene las micropartículas. En una forma de realización preferida, la segunda cámara de mezcla (108) es contigua a la primera cámara de mezcla (102), como se ilustra en la Figura 1.

Si la segunda cámara de mezcla (108) no es contigua a la primera cámara de mezcla (102), entonces la emulsión se puede transferir de la primera cámara de mezcla (102) a una segunda cámara de mezcla ampliada que contiene una cantidad de un agente reticulante. En dicha forma de realización, la reticulación se produce esencialmente simultáneamente, es decir, en menos de 2 segundos; sin embargo, el tiempo de estancia en la cámara se puede extender desde pocas horas hasta algunos días, dependiendo de la composición de la micropartícula y del agente reticulante para deshidratar más las micropartículas.

Si la segunda cámara de mezcla (108) es contigua a la primera cámara de mezcla (102), como se ilustra en la Figura 1, la emulsión se transfiere directamente desde la primera cámara de mezcla (102) a la segunda cámara de mezcla (108). Al entrar la emulsión en la cámara (108) a través del tercer orificio (113), se introduce una corriente de solución de agente reticulante a una velocidad de flujo predeterminada en la segunda cámara de mezcla (108) a través de un cuarto orificio (110). En una forma de realización preferida, el cuarto orificio (110) es perpendicular al eje longitudinal de la cámara de mezcla (108) y está desplazado respecto a la línea de la corriente de la emulsión, para la introducción de la corriente de reticulación esencialmente tangencial al flujo de la emulsión.

Un parámetro importante para la preparación con éxito de las micropartículas que presentan el diámetro medio y las propiedades de carga del fármaco deseadas es la velocidad de flujo de las soluciones introducidas en las cámaras de mezcla. En el sistema descrito en el Ejemplo 1 para producir micropartículas de alginato cargadas con ICAM-1, la velocidad de flujo de la solución fármaco/polímero a la primera cámara de mezcla es de entre 5 y 10 ml/min, y el emulsionante se introduce en la primera cámara de mezcla a una velocidad de flujo de entre aproximadamente 50 y 80 ml/min. Se llevaron a cabo una serie de ensayos utilizando una solución LVCR al 1% p/p, acetato de etilo prehumedecido, y un agente reticulante de cloruro cálcico utilizando el sistema de la Figura 1. Después de la recogida y el secado, cada muestra se tamizó a través de una malla de 250 μ m para segregar las partículas más grandes de la masa como indicador de la cantidad de aglomeración producida. La Tabla 1 siguiente identifica el porcentaje de producto prensado recuperado inferior a 250 micras.

TABLA I

	Número de muestra	LVCR Velocidad de flujo (ml/min)	EtOAc Velocidad de flujo (ml/min)	Reticulación Velocidad de flujo (ml/min)	% de producto picado tamizado inferior a 250 μm
5	1	10	50	70	95
10	2	10	30	70	0
	3	10	80	70	84
	4	15,3	50	70	84
15	5	15,3	30	70	Producto con escamas
	6	15,3	80	70	41
	7	24	60	70	90
	8	24	80	70	71
20	9	37	50	70	74
	10	37	80	70	31
	11	25	60	40	66

Se utilizaron unos análisis adicionales de las partículas que presentan un tamaño inferior a 250 micras utilizando tanto el análisis de tamaño Malvern como el Horiba. La clasificación por tamaño de Malvern 2600c es una técnica de clasificación por tamaño conocida basada en los principios de difracción por láser utilizando un clasificador de tamaño de gotitas y de partículas, disponible en Malvern Instruments Co., Inc., (Southborough, MA). El análisis Horiba es una técnica de clasificación por tamaño conocida basada en las técnicas de sedimentación de partículas y se lleva a cabo utilizando un analizador de distribución del tamaño de partículas Horiba CAPA-700, disponible en Horiba Instruments, Inc. (Irving, CA). La clasificación por tamaño en el analizador Horiba se basa en las propiedades aerodinámicas de las partículas, y los resultados se presentan como diámetro aerodinámico medio de la masa (DAMM) y porcentaje de partículas en unos intervalos de tamaño representativos. La Tabla 2 siguiente presenta los resultados de dichos análisis para las muestras seleccionadas de la Tabla 1.

TABLA 2

Clasificación por tamaño de las partículas

	Número de muestra	Medio (μm)	Horiba		Medio (μm)	Malvern	
			% $\leq 100 \mu\text{m}$	% $\leq 10 \mu\text{m}$		% $\leq 100 \mu\text{m}$	% $\leq 10 \mu\text{m}$
	1	46,3	86,4	1,9	48,2	94,7	0,9
	3	58,6	73,7	1,3	65,4	86,2	0,5
50	7	61,1	76,7	1,0	54,0	94,1	0,6

Preferentemente, la velocidad de flujo del agente reticulante es tan baja como sea posible con el fin de crear suficiente turbulencia dentro de la segunda cámara de mezcla (108) para mezclar las micropartículas con el agente reticulante sin generar un exceso de turbulencia para reducir el tamaño de las partículas. En una forma de realización preferida, se introduce LVCR al 1% p/p con ICAM-1 en la primera cámara de mezcla a una velocidad de flujo de aproximadamente 5 ml/min. Se introduce acetato de etilo prehumedecido (2,8% de agua) en la primera cámara de mezcla a una velocidad de flujo de aproximadamente 83 ml/min.

El agente reticulante puede ser cualquier agente que reaccione con el emulsionante para solidificar las micropartículas. En una forma de realización preferida, el cloruro cálcico se utiliza como agente reticulante cuando el alginato sódico se utiliza para formar la emulsión. Se pueden utilizar otras sales de calcio, siempre que sean solubles en el solvente o en una mezcla de solvente. En el procedimiento de reticulación, el sodio del alginato sódico se puede sustituir por el calcio, produciendo unas micropartículas de alginato cálcico no soluble en agua cargadas con ICAM-1. En dicha forma de realización, la sal de calcio se disuelve en una cantidad de solvente deshidratante, como la acetona y el alcohol etílico que deshidrata las micropartículas. Preferentemente, la solución de reticulación incluye CaCl_2 al 0,8% en acetona al 60% y etanol al 40%.

En la forma de realización de ICAM-1/LVCR, el cloruro cálcico está presente en un exceso estequiométrico suficiente para reticular completamente el alginato sódico en una solución de LVCR sin producir un precipitado de cloruro cálcico en el producto final. Además, si las concentraciones de cloruro cálcico son demasiado elevadas, se produce una cantidad excesiva de reticulación, que evita la formación de micropartículas individuales. El producto final entonces es o bien una matriz continua de material reticulado o unas partículas no esféricas grandes (es decir, 1-2 mm).

Los solventes que se pueden utilizar con el agente reticulante comprenden la acetona, que no degrada la ICAM-1 tan fácilmente como otros solventes, como el alcohol isopropílico. Los diferentes solventes se pueden utilizar conjuntamente con otros fármacos, y puede depender por lo menos en parte de la solubilidad del fármaco en cuestión. Cada solvente presenta sus ventajas y sus inconvenientes. La acetona deshidrata fácilmente las micropartículas reticuladas pero no disuelve el cloruro cálcico. El etanol es miscible fácilmente con otros solventes en el sistema presente, y disuelve rápidamente el cloruro cálcico, pero puede dar como resultado unas cargas bajas de fármaco, por ejemplo cuando se utiliza en un sistema de carga con ICAM-1, si el fármaco es soluble en etanol. El uso de alcohol isopropílico puede dar como resultado un secado rápido del producto que se puede manipular correctamente, pero puede dar como resultado unas cargas bajas de fármaco. Al usar la combinación de acetona/etanol, como 85/15, 70/30 o 65/35, puede conllevar unas cargas mayores pero representa un coste de producción aumentado debido al uso de dos solventes.

Los solventes se seleccionan por su coste, adecuación al procedimiento, y al uso habitual existente en la industria farmacéutica. La acetona se puede mezclar con etanol mejor que con agua, porque el agua es generalmente inmiscible con otros solventes del procedimiento y se elimina el efluente final. Dicha separación de fase resulta indeseable para las micropartículas cargadas con ICAM-1 debido a la pérdida potencial de ICAM-1 en la fase acuosa, la aglomeración del producto y la deshidratación incompleta. Se prefiere una cantidad suficiente de etanol tanto para disolver el cloruro cálcico como para evitar una mezcla en dos fases en el efluente.

Un factor importante para la determinación del éxito del sistema presente y el procedimiento es la carga y el rendimiento de fármaco en las micropartículas. Para ICAM-1, el rendimiento deseado es superior al 80%. Las pérdidas en el rendimiento total incluye la ICAM-1 perdida en el procedimiento del filtrado así como el aclarado del filtrado, pérdidas debidas a la desactivación de la ICAM-1, y pérdidas en la fracción de la micropartículas fuera del intervalo de tamaño de micropartículas deseado.

Las mediciones de carga de la ICAM-1 se pueden determinar mediante filtración de la ICAM-1 de las micropartículas o por disolución completa de las micropartículas y el análisis de la concentración mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) o nefelometría, o mediante otros procedimientos que son o pueden ser conocidos en la técnica.

Los solventes reticulantes etanol, acetona/etanol 85/15, acetona/etanol 70/30, acetona/etanol 65/35 e isopropanol se pueden utilizar para un sistema ICAM-1/alginato sódico como se describe a continuación en la presente memoria. La Tabla 3 siguiente muestra los resultados obtenidos a partir de unos ensayos que utilizan isopropanol, acetona/etanol 70/30 y etanol como solventes de agentes reticulantes. La Tabla 3 presenta la fracción de partículas inferiores a 100 μm y el rendimiento total de ICAM-1, calculado multiplicando la fracción de carga de ICAM-1 por la fracción de partículas inferiores a 100 μm .

Tal como se presenta en la Tabla 3, el sistema acetona/etanol 70/30 produjo esencialmente un 100% de carga de ICAM-1 al 10%, y 82% de las micropartículas tuvieron un tamaño inferior a 100 μm de diámetro. El rendimiento total, que se determinó por el rendimiento en peso seco, tiempos, rendimiento de tamizado, fue de un 82% teórico.

TABLA 3

Carga de ICAM-1 para isopropanol, acetona/etanol 70/30 y etanol. Solución reticulante

Número de muestra	Solución de reticulación	% carga de ICAM-1	% inferior a 100 μm	% rendimiento total de ICAM-1
1	isopropanol	58	--	--
2	acetona/etanol 70/30	100	82	82
3	Etanol	65	98	84

Cuando se pone en práctica el sistema de la invención en un entorno comercial, como se muestra en la Figura 2, la solución fármaco/polímero, el emulsionante, y las soluciones de reticulación se preparan en recipientes separados (202, 204, 206, respectivamente). Cada una de las soluciones se puede transferir después desde los recipientes (202, 204, 206), utilizando un dispositivo de bomba de control de flujo (116), a través de un filtro de esterilización de tamaño de poro adecuado (208); por ejemplo, 0,2 micras, y se almacena en unos tanques de contención estériles separados (212,

214, 216, respectivamente). Se puede incluir un segundo paso de filtración estéril antes de introducir las soluciones en los bloques de mezcla (100).

Al utilizar unos dispositivos de bomba de control de flujo (116) o bien un único aparato con bomba de control de flujo que presenta varias entradas y salidas que permiten unas velocidades de flujo separadas para cada solución, se bombean las soluciones de los tanques de contención estériles (212, 214, 216) y hacia el bloque de mezcla (100) a través de los orificios adecuados. Se puede utilizar un entubado flexible para transferir las soluciones desde cada uno de los recipientes al bloque de mezcla (100).

Puede resultar preferible cebar los dispositivos de bombas de entrada (116) con una solución tampón para cada una de las soluciones que se van a introducir a el bloque de mezcla (100). La entrada de la solución de fármaco/polímero que se incorpora en la primera cámara de mezcla (102) puede ser previa o posterior a que se inicie la entrada del emulsionante. En determinadas circunstancias puede incrementar la relación coste/efectividad del procedimiento el hecho de reducir la cantidad de fármaco residual introducido en el bloque de mezcla (100) mediante la introducción inicialmente del emulsionante en la primera cámara de mezcla (102) antes de introducir la solución fármaco/polímero.

El diagrama de flujo de la Figura 3 resume un procedimiento preferido para la puesta en práctica de la presente invención. La solución de fármaco/polímero se introduce (302) en una primera cámara de mezcla (102) preferentemente de forma simultánea a la introducción (304) del emulsionante en la primera cámara de mezcla (102), formando de este modo (306) una emulsión que contiene las micropartículas y el solvente. Después se transfiere la emulsión (308) a la segunda cámara de mezcla (108), momento en el que se introduce un agente reticulante (310) en la cámara (108).

El espacio de tiempo que permanece la emulsión en la primera cámara y la solución de reticulación permanece en la segunda cámara está en función de las velocidades de flujo de las corrientes individuales que fluyen hacia las cámaras respectivas. Debido a que tanto la formación de micropartículas como la reticulación se producen sustancialmente instantáneamente, es decir, en menos de aproximadamente 2 segundos, no se precisa un periodo de incubación en ninguna de las cámaras.

Cuando la mezcla de las micropartículas y el solvente de reticulación salen del bloque de mezcla (110), se filtra la mezcla (312) a través de un filtro o un tamiz (218) que retiene las micropartículas superiores al tamaño mínimo predeterminado. En una forma de realización preferida, las micropartículas que contienen ICAM-1 se filtran mediante un material de filtro comercial estándar. El filtro puede recuperar las partículas que presentan un diámetro superior a aproximadamente 20 μm , eliminando unas micropartículas inferiores a 20 μm , posiblemente en un tanque de recuperación de residuos (118). Alternativamente, el filtro (218) puede filtrar inicialmente partículas que son superiores a, por ejemplo 200 μm , con la filtración consiguiente para eliminar las partículas más pequeñas.

Las partículas en el filtro (218) se someten a continuación a un primer lavado (314). En una forma de realización, y como se muestra en la Figura 2, la primera etapa de lavado (314) implica la utilización de una bomba de control de flujo (116) para transportar la primera solución de lavado de un contenedor (224), a través de un filtro estéril (208) hacia un receptáculo (226).

La primera solución de lavado puede ser cualquier solución de deshidratación, como acetona, un alcohol, o una combinación de ambos. Resulta preferible un primer lavado con aproximadamente etanol al 10%, acetona al 90% o isopropanol al 90% o acetato de etilo al 90%. A pesar de que algunas soluciones pueden deshidratar la micropartícula rápida y minuciosamente, es posible que algunas soluciones puedan afectar a la eficacia del fármaco cargado en las micropartículas de interés. La primera etapa de lavado (314) se destina a eliminar el exceso de agente reticulante, por ejemplo, cloruro cálcico, sin precipitación. La primera etapa de lavado (314) también se destina a eliminar el exceso de emulsionante, es decir acetato de etilo.

Después de la primera etapa de lavado (314), se lleva a cabo preferentemente una segunda etapa de lavado (316) de forma similar a la primera etapa de lavado (314). Es decir, como se muestra en la Figura 2, se transfiere una segunda solución de lavado a través de un dispositivo de bomba de control de flujo (116) desde un contenedor (228), a través de un filtro estéril (208) hacia un receptáculo (230). La segunda etapa de lavado (316) se puede realizar utilizando las mismas soluciones que en la primera etapa de lavado (314), o bien una variación. Las soluciones utilizadas en la segunda etapa de lavado (316) también deben deshidratar las micropartículas, de este modo dichas soluciones pueden incluir acetona sola, isopropanol, o acetato de etilo entre otros. La segunda etapa de lavado (316) se destina a eliminar el residuo de las soluciones del primer lavado. De este modo, una solución de segundo lavado preferida puede ser acetona al 100%.

Las micropartículas se pueden recuperar (232) utilizando varios procedimientos conocidos en la técnica. En un procedimiento de recolección directa, la muestra se recoge directamente en un embudo Buchner con filtro o en otro filtro que se pueda utilizar para la producción industrial. El filtrado se pasa a través del filtro mediante succión aplicada, y se forma una pasta de micropartículas cuando se recoge el producto en el filtro.

Otro procedimiento de recolección implica la recolección de la corriente colateral (es decir micropartículas y solventes) en un recipiente que permite mantener el producto durante un periodo de tiempo especificado (por ejemplo, 0-48 horas) y filtrar a continuación la muestra. El tiempo de contacto de las micropartículas con el solvente puede

separar el fármaco o la proteína de las micropartículas, pero puede proporcionar una mayor deshidratación de las micropartículas cuando el sistema de solvente utilizado es uno que tiene una gran afinidad por el agua.

La pasta de filtro que permanece en el filtro después de la segunda etapa de lavado (316) se puede a continuación recoger y colocar en un receptáculo para una etapa de secado (318). Preferentemente, la sustancia filtrada se coloca en un horno de secado al vacío durante un periodo largo de tiempo, es decir a una temperatura de aproximadamente 50°C durante más de 8 horas. La duración del tiempo, la temperatura y el vacío dependen de la composición específica de las micropartículas y del volumen de producción. Sin embargo, las micropartículas se pueden rehidratar y recuperar hasta un 5-10% de su peso mediante exposición a un ambiente húmedo.

Como etapa final, las partículas secas se puede disgregar (320), por ejemplo en un sistema de mano y mortero o cualquier sistema similar adaptado para su uso comercial, en un producto final de aspecto de polvo fino y, si es necesario, se tamiza para proporcionar la distribución de tamaño deseada. Un producto final deseado del procedimiento es una cantidad de micropartículas no aglomeradas dentro del intervalo de diámetro deseado, y que presenta una carga de fármaco dentro de un intervalo deseado.

Se puede a continuación formular el producto de micropartículas, utilizando las formulaciones estándar conocidas y disponibles para los expertos en la materia, para un dispositivo de liberación nasal del fármaco. Las micropartículas cargadas con fármaco producidas según la presente invención poseen unas propiedades de adhesión a la vía nasal, y de liberación gradual del fármaco contenido en el interior hacia el sistema circulatorio del paciente receptor. El alginato en las micropartículas interactúa con la mucosa contenida en la vía nasal para formar una sustancia de aspecto similar a un gel que se adhiere a la superficie de la vía nasal de manera que se libera el fármaco.

En una forma de realización de un procedimiento de producción a escala industrial que utiliza la presente invención, se pueden utilizar las siguientes cantidades de los componentes para un ensayo de producción de 250 gramos: aproximadamente 35 gramos de ICAM-1, aproximadamente 70 litros de acetona, aproximadamente 50 litros de etanol, y aproximadamente 120 litros de acetato de etilo para el procedimiento. Las etapas de lavado asociadas pueden requerir aproximadamente 12 litros de acetona y aproximadamente 1 litros de etanol. Varios bloques de mezcla del tipo que se presenta en la Figura 4 pueden funcionar en paralelo para conseguir el ensayo de producción deseado. Alternativamente, pueden funcionar varias combinaciones de sistemas que actúan en paralelo para la producción comercial de micropartículas de alginato cálcico cargados con ICAM-1.

Los ejemplos siguientes no limitativos son unas formas de realización representativas del sistema de la invención y del procedimiento descritos anteriormente.

Ejemplos

Ejemplo 1

En el presente ejemplo, el efluente es LVCR al 1% p/p y ICAM-1 al 0,11%, el emulsionante es acetato de etilo prehumedecido (agua 2,8%), y la solución de reticulación es cloruro cálcico al 0,8% en etanol. Para el LVCR cargado con ICAM-1, el intervalo de diámetro de partícula deseado se encuentra entre 20 μm y 80 μm , más preferentemente una media de entre 40 μm y 50 μm . La carga de ICAM-1 deseada es de aproximadamente 10%, y el objetivo en cuanto a la recuperación es de aproximadamente 80% a aproximadamente el 100%.

Al utilizar el bloque de mezcla que se presenta en la Figura 4, la velocidad de flujo de la corriente de LVCR varía de 15 a 45 mililitros por minuto (ml/ min) y la velocidad de flujo de la corriente del acetato de etilo varía de 61 a 106 ml/ min. La Tabla 4 muestra unos resultados representativos de una muestra obtenido utilizando dichos parámetros.

TABLA 4

Número de muestra	Flujo ml/min			Clasificación por tamaño de Malvern		
	LVCR	EtOAc	Reticulación	Medio (μm)	% inferior a 100 μm	% inferior a 8,8 μm
1	15	61	70	88,4	63,8	0,3
2	22	68	70	95,0	58,8	0,3
3	28	73	70	100,6	53,4	0,2

Ejemplo 2

Se realizaron una serie de ensayos para determinar si el diámetro del orificio utilizado para introducir la corriente efluente en la primera cámara de mezcla produce algún efecto sobre el tamaño y la distribución de las micropartículas producidas.

Los ensayos se llevaron a cabo utilizando el sistema presentado en la Figura 4, y una solución del LVCR al 1% p/p. El diámetro interior del orificio de LVCR se aumentó de 0,034 cm a 0,069 cm, y se variaron las velocidades de flujo de la solución de LVCR y de las soluciones de acetato de etilo. La velocidad de flujo del agente reticulante se mantuvo constante. Los resultados de dichos ensayos se describen en la Tabla 5 siguiente:

TABLA 5

Condiciones de funcionamiento y Resultados del tamizado

Número de muestra	Diámetro interior LVCR (pulgadas)	LVCR	EtOAc	Reticulación	% inferior a 100 μm	% inferior a 250 μm
1	0,0135	28	89	70	27,9	40,2
2	0,0135	28	72	70	49,5	74,6
3	0,0135	31	72	70	17,9	64,0
4	0,0135	29	72	70	31,3	74,4
5	0,027	28	72	70	16,9	40,2
6	0,027	31	72	70	34,8	50,4
7	0,027	31	56	70	17,8	46,5
8	0,0135	14	28	70	49,5	95,7
9	0,0135	28	72	70	46,7	85,3

Los resultados de la Tabla 4 muestran que en todos los casos, más del 15% de las partículas fue más grande de 100 μm , y en algunos casos casi el 50% de las partículas eran superiores a 100 μm de diámetro. Los resultados indican que el tamaño de partícula no depende únicamente del diámetro del orificio del LVCR. Otros factores, como el diámetro interior de la cámara de mezcla, la velocidad de flujo, la turbulencia interna pueden ser otros factores que afectan al tamaño de partícula.

Ejemplo 3

Se utilizó alcohol isopropílico como solvente de reticulación para la solución ICAM-1/LVCR. Los resultados muestran que las micropartículas producidas utilizando alcohol isopropílico como solvente de reticulación se secan más rápidamente y se manipulan mejor que las micropartículas producidas utilizando acetona u otros alcoholes.

En el presente ejemplo, se utilizaron una velocidad de flujo de LVCR de 14 ml/min y una velocidad de flujo de acetato de etilo de 65 ml/min en el bloque de la Figura 4. Utilizando unas soluciones de polímero no cargadas, fue posible producir 45 gramos de micropartículas no cargadas en aproximadamente 5 horas (es decir, velocidad de 0,16 g/min). De los 45 gramos recogidos, 37,2 gramos, es decir el 83% fueron más pequeños de 100 μm .

La clasificación por tamaño en un aparato Horiba de las partículas tamizadas a través de una malla de 100 μm produjo un tamaño medio de 47 μm , siendo el 89% inferior a 100 μm y siendo el 4,4% inferior a 10 μm . De este modo, para LVCR no cargado se consiguió que las partículas presenten el intervalo de tamaño de diámetro medio deseado de 40 μm a 50 μm .

Ejemplo 4

Se realizaron un grupo de ensayos en masa de 50 gramos utilizando LVCR tanto cargado como sin ICAM-1 para ensayar la longevidad del sistema inventivo durante el ensayo. En el presente ejemplo, se utilizó acetato de etilo húmedo (agua al 2,8%) como emulsionante y se utilizó LVCR al 1% p/p. La velocidad de flujo del conjunto para la corriente de LVCR fue de 15,5 ml/min y la velocidad de flujo del conjunto para las corrientes de acetato de etilo y de la solución de reticulación fue de 70 ml/min. La solución de LVCR se tamponó utilizando o bien Histidina 10 mM o Tris 10 mM y después se utilizó a continuación ICAM-1, conteniendo la solución de LVCR asimismo 2,3% (p/v) de ICAM-1 al 10% en peso.

ES 2 281 084 T3

Los resultados de dichos ensayos se resumen en la Tabla 6 siguiente.

TABLA 6

5

	Número de muestra	Tampón	Solución de Reticulación	% de ICAM-1 teóricamente cargada	% pt de producto (< 100 µm)
10	1	Tris, 10 mM	Acetona/EtOH 70/30	91	82
15	2	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 70/30	81	94
	3	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 65/35	78	98
20	4	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 65/35	67	86
	5	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 60/40	86	77
25	6	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 60/40	93	50
	7	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 60/40	No ICAM	92
30	8	Histidina, 10 mM	Acetona/EtOH 60/40	No ICAM	76

35 Tal como se muestra en la Tabla 6, la carga de ICAM-1 en las muestras de histidina se encuentra en el mismo intervalo que el de la muestra de TRIS. Las otras entradas muestran que cuando la proporción de acetona a etanol varía, la carga se mantiene a aproximadamente el 80% teórico. La carga de ICAM-1 de las muestras fue de forma reproducible superior a 75% de carga teórica.

Ejemplo 5

40

En el presente ejemplo, las muestras que se secaron inicialmente durante 12 horas o 3 días en un horno de vacío se volvieron a secar en el horno durante un periodo adicional de 4 ó 10 horas, respectivamente. Después del segundo secado, se pesaron, se dejaron para equilibrarse a las condiciones ambientales y se pesaron de nuevo. La Tabla 7 siguiente presenta los resultados de dichos estudios de secado.

45

TABLA 7

Pérdida en el segundo secado

50

	Número de muestra	Tiempo de secado inicial	rH% durante la primera pesada	Tiempo se segundo secado	rH% durante la segunda pesada	% Masa perdida durante el segundo secado	% Masa perdida después de permitir que vuelva al equilibrio
55	1	12 h	48	4 h	N/A	13,2	-
60	2	12 h	48	4 h	N/A	12,9	-
	3	12 h	48	4 h	N/A	8,8	-
	4	3 días	30	10 h	33	3,1	- 2,5
	5	3 días	30	10 h	33	- 0,1	- 7,4
65	6	3 días	30	10 h	33	28,7	20,5

ES 2 281 084 T3

5 Las muestras que se secaron inicialmente durante 12 horas perdieron aproximadamente 10% de agua debido al segundo secado. Sin embargo, dichas muestras se trataron inicialmente bajo unas condiciones húmedas (es decir; 48% rH) y podrían haber perdido sólo el agua ganada durante el procesamiento. Las muestras secadas inicialmente durante 3 días presentaron unos resultados variables. En algunos casos, no se observó esencialmente una pérdida de agua después del segundo secado. Sin embargo, en otros casos, se detectó una pérdida sustancial de peso después del segundo secado. En todas las muestras, las micropartículas ganaron peso después de alcanzar el equilibrio en condiciones ambientales.

10 A pesar de que la presente invención se ha descrito en términos de procedimientos y composiciones específicas, se entiende que los expertos en la materia podrán introducir variaciones y modificaciones según la consideración de la presente invención.

15 Por ejemplo, se espera que unos fragmentos más pequeños de proteína y péptidos derivados de la ICAM-1 que contienen todavía el sitio de unión del virus puedan ser eficaces para la encapsulación y la liberación como se describe en la presente memoria.

20 A pesar de que la forma preferida de la presente invención se describe en términos de la t-ICAM 453 en una micropartícula de alginato, se espera que otras proteínas y polipéptidos puedan resultar adecuadas para la carga en una micropartícula de alginato, y que la ICAM-1 pueda ser utilizada combinada con otro material diferente del alginato. Se espera que el procedimiento y el sistema generales de la presente invención para la producción de micropartículas cargadas con ICAM-1 se puedan utilizar para preparar otras micropartículas cargadas con numerosos fármacos diferentes.

25 Se espera que sean introducidas numerosas modificaciones y variaciones en la invención tal como se describe en los ejemplos ilustrativos por parte de los expertos en la técnica y por consiguiente únicamente se aplicarán las limitaciones tal como aparecen en las reivindicaciones adjuntas.

30 Por consiguiente, se pretende en las reivindicaciones adjuntas cubrir todas las variaciones equivalentes comprendidas dentro del alcance de la invención tal como se reivindica.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Aparato para la formación de micropartículas cargadas con un fármaco, que comprende:

una primera cámara de mezcla, comprendiendo dicha primera cámara

un primer orificio adaptado para introducir axialmente en dicha primera cámara de mezcla, una primera corriente de una primera solución que comprende unas cantidades predeterminadas de dicho fármaco y un polímero formador de micropartículas, y

un segundo orificio próximo a dicho primer orificio adaptado para introducir una segunda corriente de un emulsionante en dicha primera corriente, para formar una emulsión en dicha primera cámara de mezcla, presentando dicho segundo orificio un diámetro y una orientación a dicha primera cámara de mezcla en la que dicha segunda corriente está dirigida a romper dicha primera solución en partículas pequeñas, y dicho segundo orificio influye en dicha segunda corriente y dicha primera corriente para formar dichas partículas pequeñas y para desplazarse según una trayectoria helicoidal en dicha primera cámara de mezcla, y

una segunda cámara de mezcla, axialmente adyacente a dicha primera cámara de mezcla, que comprende un tercer orificio adaptado para introducir una solución de reticulación, conteniendo dicha solución de reticulación una cantidad predeterminada de un agente reticulante en un solvente de reticulación, en dicha segunda cámara de mezcla, presentando dicho tercer orificio un diámetro y una orientación a dicha segunda cámara de mezcla en la que dicho agente reticulante se inyecta ortogonal a y desplazado respecto a un eje de dicha segunda cámara de mezcla, en la que dicho agente reticulante está dirigido por dicho tercer orificio en dicha primera corriente y dicha segunda corriente creando un flujo helicoidal turbulento.

2. Aparato según reivindicación 1, en el que dicha segunda corriente es tangencial a dicha primera corriente.

3. Aparato según la reivindicación 2, en el que dicha segunda corriente está desplazada respecto a dicha primera corriente.

4. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que por lo menos una de dicha primera y dicha segunda cámaras de mezcla es un material no metálico.

5. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho fármaco es uno de entre el grupo constituido por: molécula de adhesión intercelular ICAM-1, proteínas, péptidos, vacunas y fármacos solubles en agua.

6. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho polímero es un alginato.

7. Aparato según la reivindicación 6, en el que dicho alginato se selecciona de entre alginato sódico, alginato cálcico sódico, alginato potásico y alginato de propilenglicol.

8. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho emulsionante se selecciona de entre acetato de etilo y hexano.

9. Aparato según la reivindicación 8, en el que dicho emulsionante comprende acetato de etilo prehumedecido con agua.

10. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho agente reticulante es el cloruro cálcico.

11. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho solvente de reticulación se selecciona de entre alcohol isopropílico, etanol, mezclas de acetona/etanol.

12. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha primera cámara de mezcla es contigua a dicha segunda cámara de mezcla.

13. Aparato según la reivindicación 1, en el que dicho fármaco es ICAM-1, dicho polímero comprende alginato sódico, dicho emulsionante comprende acetato de etilo prehumedecido, dicho agente reticulante comprende cloruro cálcico y dicho solvente de reticulación comprende una mezcla de etanol/acetona.

14. Procedimiento para la producción de micropartículas cargadas con fármaco, que comprende las etapas siguientes:

A. introducir una corriente que comprende un alginato y el fármaco a una velocidad de flujo predeterminada en una primera cámara de mezcla para formar las gotitas de alginato que contienen el fármaco,

B. introducir una corriente de un emulsionante a una velocidad de flujo predeterminada en dicha primera cámara de mezcla;

C. formar una emulsión de dichas gotitas de alginato y dicho emulsionante en dicha primera cámara de mezcla;

D. transportar dicha solución desde dicha primera cámara de mezcla y hacia un recipiente que contiene una cantidad de agente reticulante; y

E. introducir un agente reticulante a una velocidad predeterminada en dicha segunda cámara de mezcla para formar las micropartículas de alginato que contienen dicho fármaco.

15. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicha etapa de introducción de la corriente de emulsión comprende además la introducción de la corriente emulsión en dicha primera cámara de mezcla tangencial a dicha corriente de alginato y fármaco.

16. Procedimiento según la reivindicación 15, que comprende además la introducción de una corriente de emulsionante en dicha primera cámara de mezcla desplazada respecto a dicha corriente de alginato y fármaco.

17. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicha etapa de introducción del agente reticulante comprende además la introducción de dicho agente reticulante tangencial a dicha corriente de emulsión y en dicha segunda cámara de mezcla.

18. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicho fármaco comprende una molécula de adhesión intracelular ICAM-1.

19. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicho alginato es uno de entre el grupo de alginatos constituido por alginato sódico, alginato cálcico sódico, alginato potásico y alginato de propilenglicol.

20. Procedimiento según la reivindicación 19, en el que el alginato es el alginato sódico.

21. Procedimiento según la reivindicación 19, en el que dicho emulsionante es uno de entre el grupo de solventes constituido por acetato de etilo y hexano.

22. Procedimiento según la reivindicación 19, que comprende además la etapa que consiste en, después de la etapa de reticulación, aclarar dichas micropartículas con una solución de aclarado para deshidratar dichas micropartículas.

23. Procedimiento según la reivindicación 22, en el que dicha solución de aclarado es una de entre el grupo constituido por acetato de etilo, isopropanol, etanol; y sus mezclas.

24. Procedimiento según la reivindicación 14, en el que dicho fármaco es ICAM-1, dicho polímero es el alginato sódico, dicho emulsionante comprende acetato de etilo prehumedecido con agua, y dicho agente reticulante comprende un cloruro cálcico.

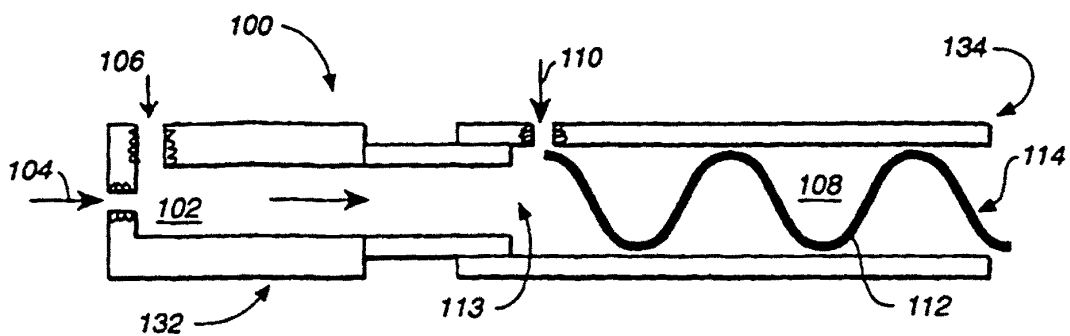


FIG._1

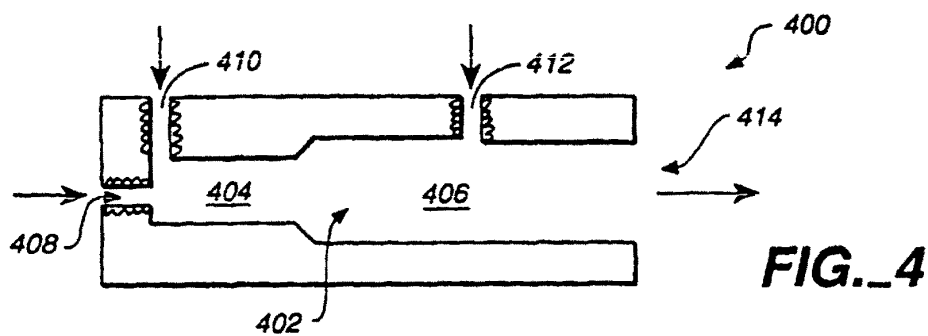


FIG._4

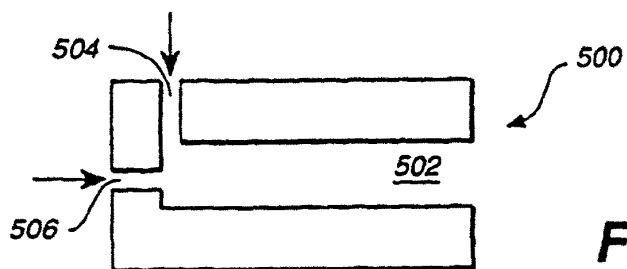


FIG._5

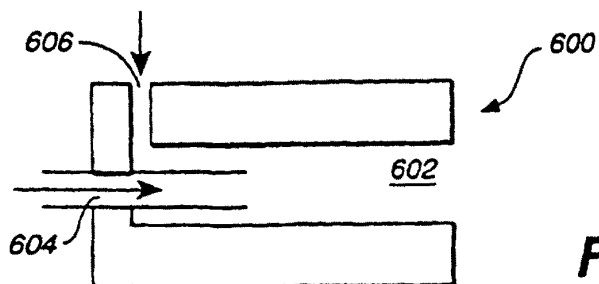


FIG._6

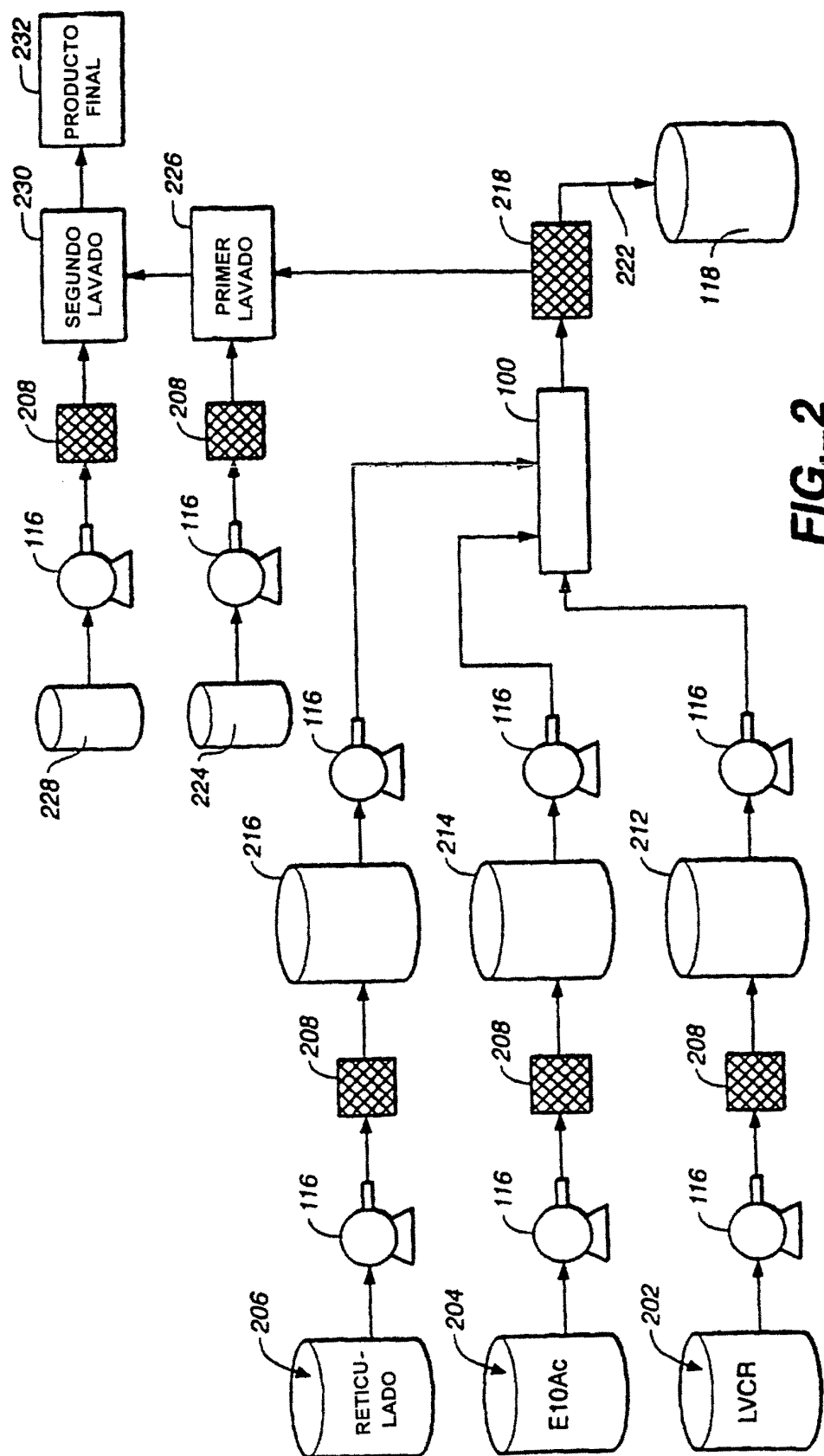


FIG. 2

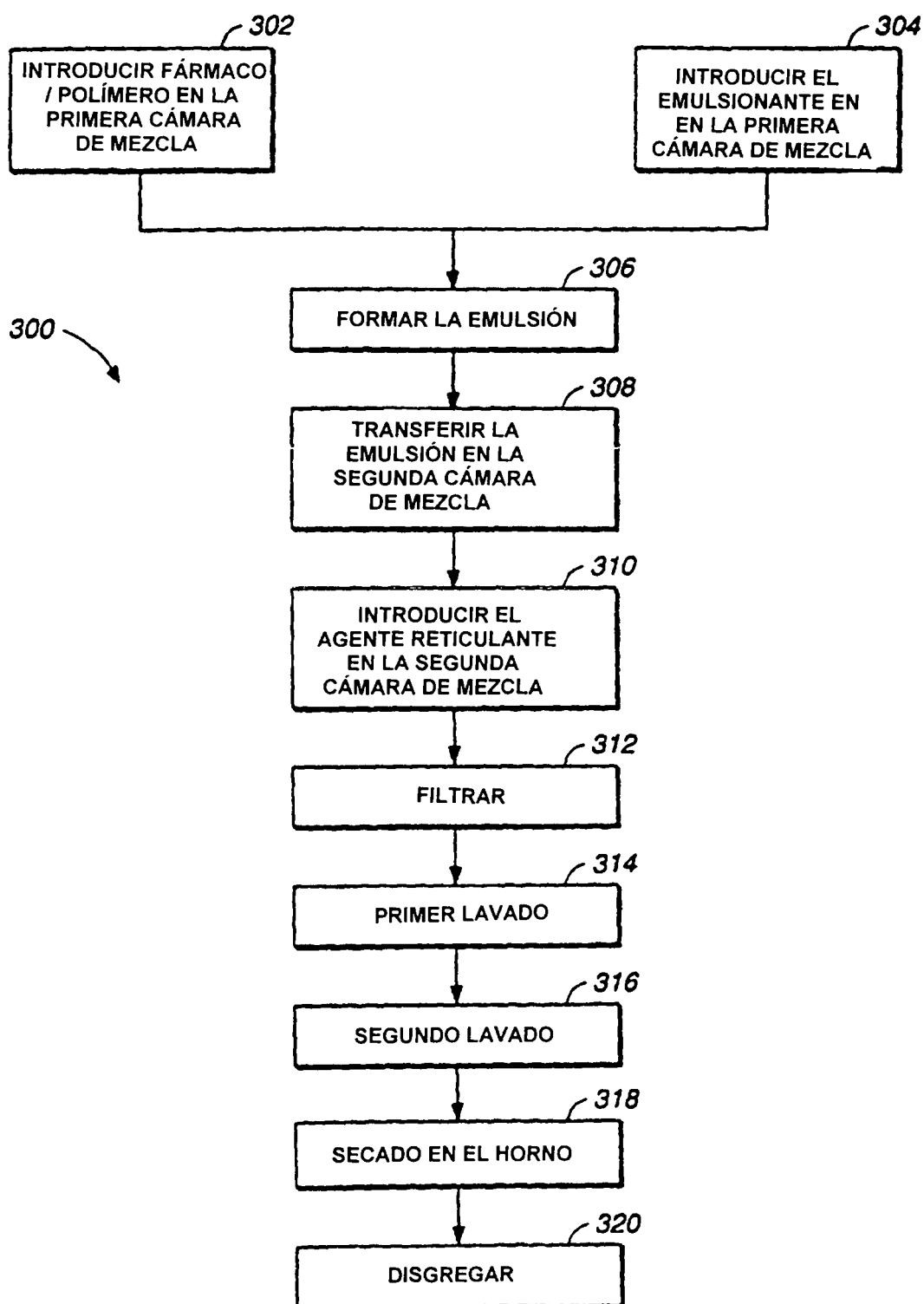


FIG. 3

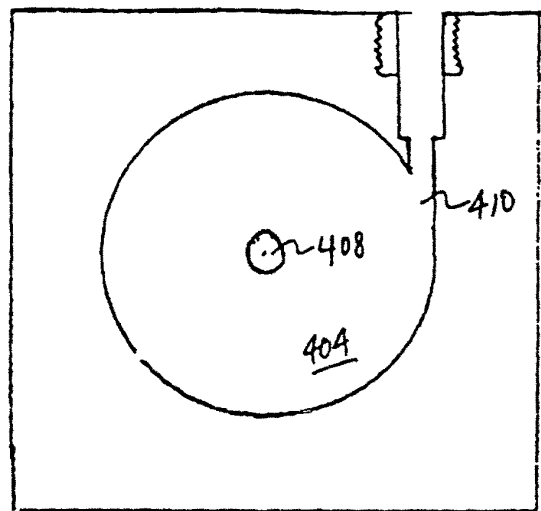


FIGURA 4C

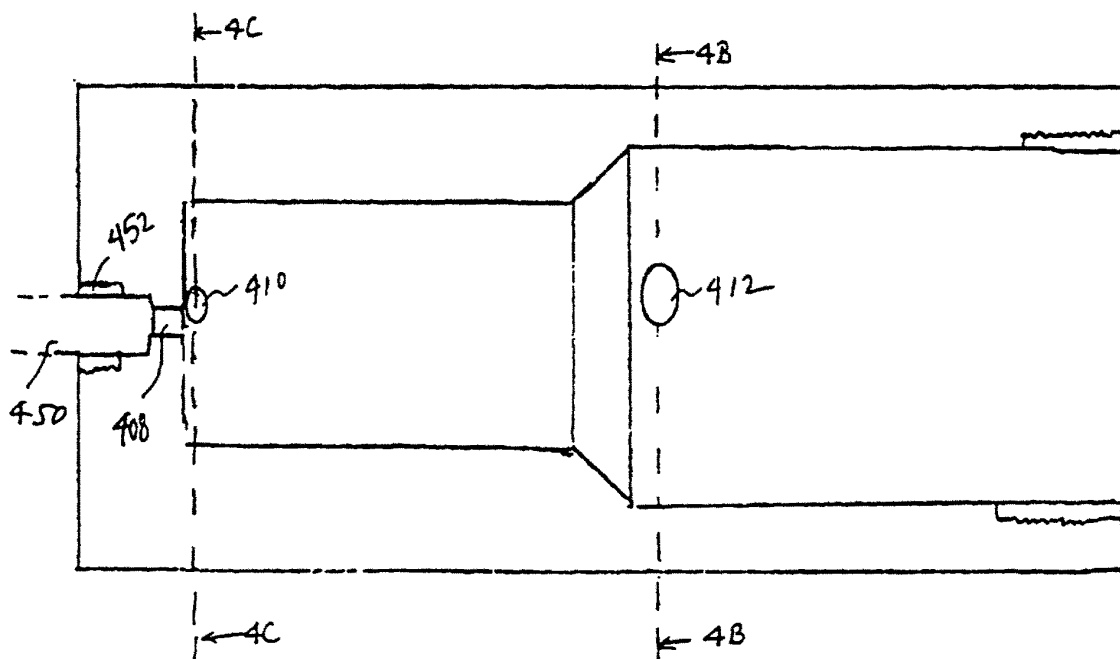


FIGURA 4A

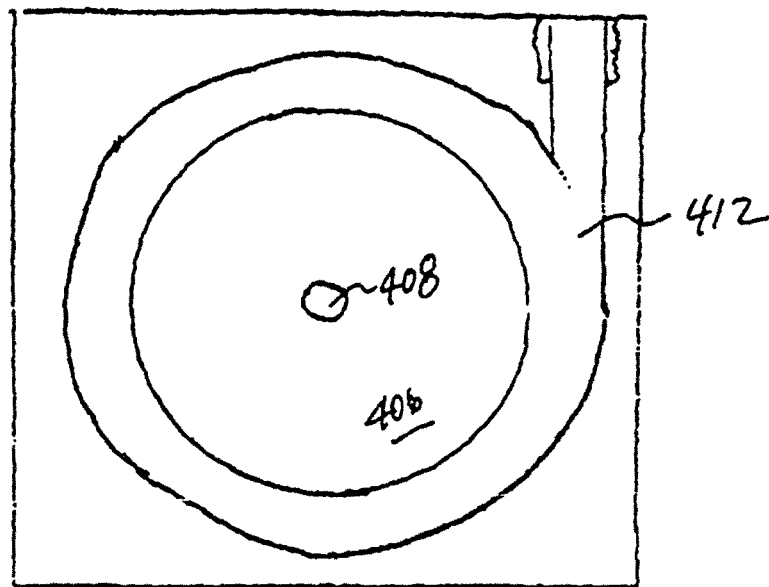


FIGURA 4B